

Н.И. ХРАМЦОВА, С.А. ПЛАКСИН, А.Ю. СОЦКОВ,
Д.Н. ПОНОМАРЕВ



ХАРАКТЕРИСТИКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК ЛИПОГРАФТА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДИКАХ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ И ПОДГОТОВКИ

Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, г. Пермь,
Российская Федерация

Цель. Определить предикторы выживаемости адипоцитов и фибробластоподобных клеток в липографте при различных методах липоаспирации и подготовки жировой ткани к аутоотрансплантации.

Материал и методы. Жизнеспособность адипоцитов проанализирована в 57 образцах липографта, полученных при различных способах липоаспирации, анализ повреждения адипоцитов и фибробластоподобных клеток – в 73 мазках после пропускания жира через фильтры разного диаметра.

Результаты. Средняя жизнеспособность адипоцитов в необработанном липоаспирате составила 59%. При водоструйной методике она равнялась 65% (медиана 61%), шприцевой – 65% (медиана 74%), механической – 55% (медиана 44%), $p=0,18$. Количество жизнеспособных адипоцитов в зависимости от донорских участков: бедра – 76%, поясница – 67%, живот – 57%, ягодицы – 50%, плечи – 38%, колени – 35%. При использовании фильтра с диаметром ячеек 1,4 мм количество неповрежденных адипоцитов составило 62-68%, фибробластоподобных клеток – 24-28%. Число жизнеспособных клеток уменьшалось с каждым пассажем. После пассажей через фильтр с диаметром ячеек 1,2 мм количество неповрежденных адипоцитов составило 42-52%, фибробластоподобных клеток – 24-26%. Последние располагались среди волокон соединительной ткани. При пассажах через эмульсифицирующий фильтр количество неповрежденных клеток снизилось до 4-16% адипоцитов и 6-16% фибробластоподобных клеток с уменьшением содержания жизнеспособных клеток с увеличением числа пассажей. Определялись единичные остатки волокон соединительной ткани, большая часть мазка была представлена гомогенным жиром.

Заключение. Жизнеспособность адипоцитов выше при использовании шприцевой методики липоаспирации с забором с внутренней и наружной поверхностей бедер и поясницы. Для регенераторной цели предпочтительно применение эмульсифицированного жира, характеризующегося разрушением адипоцитов и устранением волокон соединительной ткани, сохранением неповрежденными до 16% фибробластоподобных клеток. Заполнение дефектов мягких тканей лучше проводить отмытым «макрожиром» без фильтрации либо с использованием клеточного фильтра с диаметром ячеек 1,4 мм. Для сочетания регенераторной и волюмизирующей целей целесообразно применение анаэробных клеточных фильтров.

Ключевые слова: регенеративная медицина, жировая ткань, мезенхимальные стромальные клетки, липографт, наножир, липосакция

Objective. To determine the predictors of adipocytes and fibroblast-like cells survival in the lithograph using various techniques of lipoaspiration and adipose tissue preparation to autotraslantation.

Methods. Cellular viability was analyzed in 57 adipose tissue samples prepared by various techniques of lipoaspiration, and analysis of damage to adipocytes and fibroblast-like cells – in 73 smears after passing of adipose tissue through filters of different diameters.

Results. The average adipocyte viability in untreated lipoaspirate was 59%. Using water-jet technique, it was 65% (median 61%), syringe technique – 65% (median 74%), suction-assisted lipectomy – 55% (median 44%), $p=0,18$. The number of viable adipocytes depending on donor sites: thighs – 76%, waist – 67%, abdomen – 57%, buttocks – 50%, shoulders – 38%, knees – 35%. The number of intact adipocytes after 1.4 mm filter processing was 62-68%, fibroblast-like cells – 24-28%. The number of viable cells reduced with each passage. The number of intact adipocytes after 1.2 mm filter was 42-52%; of non-damaged fibroblast-like cells were 24-26% which located among connective tissue. The number of intact cells after emulsifying filter elevated up to 4-16% of adipocytes and 6-16% of fibroblast-like cells with a reduction of viable cells number with increasing of each passage. Single connective tissue fibers were determined, most content of the smear was represented by homogeneous fat.

Conclusion. The viability of adipocytes is higher when using the syringe lipoaspiration technique with sampling from the inner and outer surfaces of the thighs and lower back. For regenerative purposes, it is preferable to use emulsified fat, characterized by the destruction of adipocytes and the elimination of connective tissue fibers, keeping intact up to 16% of fibroblast-like cells. The defects of soft tissue is better to fill with washed «macro-fat» without filtration, or use a 1.4 mm cell filter. For a combination of regenerative and volumizing purposes, it is advisable to use anaerobic cell filters.

Keywords: adipocytes, regenerative medicine, adipose tissue mesenchymal stem cells, fat grafting, nanofat, lipectomy

Novosti Khirurgii. 2021 Aug-Sep; Vol 29 (4): 445-453

The articles published under CC BY NC-ND license

Characteristic of Viability of Liporraft Cells at Various Techniques of its Selection and Processing

N.I. Khramtsova, S.A. Plaksin, A.Yu. Sotskov, D.N. Ponomarev



Научная новизна статьи

Проанализирована жизнеспособность взятых с различных анатомических зон адипоцитов при использовании различных методик липоаспирации. Впервые применена оригинальная методика анализа жизнеспособности липографта. Обнаружено достоверное различие в клеточном составе липографта при использовании разных клеточных фильтров. Впервые установлена статистически значимая отрицательная взаимосвязь между количеством жизнеспособных клеток и числом пассажей через клеточные фильтры диаметром 1,4 и 0,5 мм. Обоснованы рекомендации для подготовки различных типов липографта с целью получения максимального соотношения жизнеспособных клеток.

What this paper adds

For the first time the viability of adipocytes using different lipoaspiration techniques and taken from different anatomical areas has been analyzed. An original technique for analyzing the viability of lipograft has been firstly applied. A reliable difference in the cellular composition of the lipograft when using different cell filters has been found. A reliable significant negative relationship between the number of viable cells and the number of passages through cell filters (D-1.4, 0.5 mm.) has been established. Recommendations for the preparation of various types of lipograft to obtain the maximum ratio of viable cells were substantiated.

Введение

В современной хирургии специальным образом подготовленная жировая ткань широко используется с целью увеличения объемов и заполнения дефектов мягких тканей. Такой вид аутотрансплантации принято называть липофиллингом или липографтингом [1]. Кроме того, являясь доступным источником мезенхимальных стволовых клеток и предшественников фибробластов, подкожная жировая клетчатка применяется с регенераторной целью. Ее получают методом липоаспирации (липосакции) с помощью специальной канюли [2]. Число отверстий в стенке канюли варьирует у разных моделей, они могут иметь различную форму и поверхность, края отверстий могут быть гладкими и режущими. Жировая ткань с помощью поступательных движений канюли забирается через канюлю в шприц или иную емкость за счет отрицательного давления, величина которого в среднем варьирует от 350 до 800 мм рт. ст. [3, 4, 5]. Полученная таким методом ткань называется липографтом и состоит из физиологического раствора, адипоцитов, клеток крови и стромально-васкулярной фракции. Последняя включает мезенхимальные стромальные клетки, фибробласты, перициты, эндотелиальные клетки, преадипоциты, клетки гемопоэтического ряда, а также факторы роста. Далее липографт специальным образом подготавливается для дальнейшей аутотрансплантации [5].

Отдаленные результаты переноса жира часто не соответствуют ожиданиям из-за его непредсказуемой резорбции от 20 до 70% в течение года [6]. По данным литературы, к предикторам выживаемости адипоцитов относятся: метод липоаспирации, давление забора жира [7], диаметр канюли [8], донорская область [9] и методика обработки жира [10]. Наиболее часто используемые методы для подготовки жировых трансплантатов — это седиментация, фильтрация, промывание и центрифугирование. Обра-

ботка жира необходима, так как липоаспириат, кроме адипоцитов и клеток мезенхимальной стромальной фракции, содержит также волокна коллагена, кровь и другие остатки тканей [5].

Подготовка липографта также включает очередную фильтрацию жира через анаэробные клеточные фильтры. Клеточный фильтр с заданным диаметром отверстия соединяет между собой два шприца, один из которых заполнен жировой тканью, последняя пропускается через фильтр из одного шприца в другой в условиях, исключающих доступ кислорода. Большинство протоколов обработки липографта включает 30 пассажей через каждый фильтр с постепенным уменьшением диаметра отверстия последнего [10]. Процедура фильтрации изменяет макроскопическую структуру и реологические свойства жира, оставляя практически неизменными клеточный состав, жизнеспособность, количество липидных капель, сосудистую архитектуру [11]. Однако степень и характер повреждения клеток при использовании различных анаэробных клеточных фильтров и при переходе от фильтра к фильтру изучены не достаточно. Отсутствует единый, универсальный алгоритм подготовки липографта.

Цель. Определить предикторы выживаемости адипоцитов и фибробластоподобных клеток в липографте при различных методах липоаспирации и подготовки жировой ткани к аутотрансплантации.

Материал и методы

Исследование включило 57 образцов жира («macrofat»), аспирированных с различных анатомических зон под местной инфильтрационной анестезией раствором Кляйна у 19 практически здоровых женщин в возрасте $38,7 \pm 11,6$ года ($M \pm \sigma$), которым с эстетической целью была выполнена липосакция. Применялись методы механической, водоструйной и шприцевой липэктомии. Вакуумную липоаспирацию про-

изводили с помощью канюли диаметром 4 мм (9 пациентов, 21 анатомическая зона), водоструйную — канюлей диаметром 4 мм (2 пациента, 13 зон), аппаратом Body Jet, шприцевую — канюлей диаметром 2,4 мм с фиксированным методом Luer-Lok шприцем объемом 20 мл (9 пациентов, 15 зон). Липоаспират собирался с разных анатомических зон в разные шприцы в анаэробных условиях и без дополнительной обработки, отмывания и фильтрации при комнатной температуре, доставлялся в лабораторию в течение 3 часов с момента его забора. Для оценки жизнеспособности адипоцитов в необработанном липоаспирате («macrofat», «макрожир») делали тонкие мазки жировой ткани, затем производили их нативное окрашивание 0,25% трипановым синим. Жизнеспособность адипоцитов оценивалась методом микроскопии при 10-кратном увеличении. Жизнеспособными считали клетки, не впитавшие красителя, нежизнеспособными — клетки, окрашенные в синий цвет. Подсчет клеток также выполнялся в нативном мазке.

Для оценки степени повреждения клеток при применении анаэробных клеточных трансферов («microfat», «nanofat» — «микрожир», «наножир») изучено 6 образцов липоаспирата, взятых из абдоминальной области у прооперированных женщин. Для фильтрации жира поочередно применялись анаэробные клеточные фильтры с диаметрами ячеек 1,4 мм и 1,2 мм и эмульсифицирующий фильтр, содержащий сетку с многочисленными ячейками с внутренним диаметром 0,5 мм («нанофильтр»). После каждых 10 пассажей тонким слоем наносились мазки липоаспирата, которые затем фиксировались ацетоном и окрашивались гематоксилином и эозином. Всего проанализировано 73 мазка: 28 — при использовании фильтра с диаметрами ячеек 1,4 мм; 25 — 1,2 мм; 20 — эмульгированного «нано жира». К фибробластоподобным относили клетки, имеющие морфологию фибробласта, включающие сами фибробласты, фиброциты и их предшественников — мезенхимальные стволовые клетки [12]. Оценивались клеточный состав липоаспирата, количество неповрежденных и разрушенных адипоцитов и фибробластоподобных клеток, степень и характер повреждения клеток.

Статистика

Полученные данные были обработаны с помощью пакетов программ Microsoft Excel 2010 и Statistica (Statsoft) 10.0. Анализ на нормальность, выполненный графическим способом с использованием критериев Лиллиефорса и Шапиро-Уилка, показал распределение данных,

отличное от нормального, для каждой количественной переменной, поэтому результаты представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q1; Q3), минимальных и максимальных значений. Данные о жизнеспособности адипоцитов получены из расчета количества жизнеспособных клеток на 100 клеток, поэтому в тексте представлены в виде процентных значений, а статистическое сравнение жизнеспособности адипоцитов, взятых из различных зон, в виде абсолютных значений выполнено с помощью медианного теста Краскелла-Уоллиса. Количество неповрежденных и разрушенных адипоцитов и фибробластоподобных клеток при использовании клеточных фильтров рассчитывалось на 100 клеток в каждом образце, поэтому для удобства в тексте представлено в виде процентов. Влияние количества пассажей через каждый клеточный фильтр на степень разрушения клеток оценивалось с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Различие в клеточном составе липоаспирата каждые 10 пассажей и при смене фильтров оценивалось с помощью критерия Вилкоксона. Статистически значимым считался результат при значении ошибки $p < 0,05$.

Результаты

Жизнеспособность адипоцитов, аспирированных с различных анатомических зон, составила 64% (36%; 95%), широко варьируя от 0% до 100% даже в пределах одного образца. Минимальная жизнеспособность адипоцитов наблюдалась в липоаспирате с большим количеством эритроцитов.

В 4 образцах через 12 часов после липоаспирации до 80% адипоцитов, хранившихся в физиологическом растворе при комнатной температуре, оказались жизнеспособными.

При сравнении различных методик липоаспирации установлено, что число жизнеспособных адипоцитов было выше при шприцевой технологии — 74% (48%; 84%), при водоструйной методике оно составило 61% (48%; 96%), при механической — 44% (20%; 96%), однако медианный тест показал отсутствие статистически значимой разницы ($p = 0,18$).

Процент жизнеспособных адипоцитов в зависимости от донорских участков представлен в таблице 1.

Максимальная жизнеспособность адипоцитов определялась в липографте, взятом с наружной и внутренней поверхности бедер (7 образцов) — 80% (от 20 до 98%), поясницы (6 образцов) — 74% (30-100%), чуть меньшая — с живота (24 образца) — 56% (0-98%), ягодич (1

Таблица 1

Количество жизнеспособных адипоцитов в зависимости от донорских участков

Участок	Количество образцов	Процент жизнеспособных адипоцитов: Me (min-max)
Наружная и внутренняя поверхности бедер	7	80% (20-98%)
Поясница	6	74% (30-100%)
Живот	24	56% (0-98%)
Ягодицы	1	50%
Плечи	2	38% (15-61%)
Колены	2	35% (50-80%)

образец) – 50%, минимальная – с плечевых областей (2 образца) – 38% (15-61%), коленей (2 образца) – 35% (50-80%).

Анализ клеточного состава при использовании анаэробных клеточных фильтров представлен в таблице 2.

При 10, 20 и 30 проходах через фильтр с диаграмми ячейек 1,4 мм количество неповрежденных адипоцитов составило соответственно 68%, 66% и 62%, неповрежденных фибробластоподобных клеток – 28%, 26% и 24% соответственно. Число разрушенных адипоцитов при применении фильтра с диаграмми ячейек 1,4 мм каждые 10 пассажей составило 4%, 8% и 12%, фибробластоподобных клеток – 0%, 0% и 2% соответственно.

В мазках определялись морфологически неповрежденные фибробластоподобные клетки,

расположенные среди элементов соединительной ткани, а также адипоциты, у части из них отмечалась фрагментация цитоплазмы. Число эритроцитов в мазках уменьшалось пропорционально числу пассажей. Микроскопическая структура жира при фильтрации трансфером с диаграмми ячейек 1,4 мм представлена на рисунке 1.

При фильтрации через 1,2 мм трансфер количество неповрежденных клеток составило: 52%, 46%, 42% адипоцитов и 24%, 24%, 26% фибробластоподобных клеток. Разрушенные адипоциты обнаружены в количестве 20%, 24% и 26%, поврежденные фибробластоподобные клетки – 4%, 6% и 6% соответственно при каждом из 10 пассажей. Микроскопическая картина повреждения адипоцитов в виде эмульсификации цитоплазмы и нарушения целостности клеточной стенки представлена на рисунке 2.

Таблица 2

Количество жизнеспособных клеток при использовании клеточных фильтров с диаметром 1,4 мм, 1,2 мм и 0,5 мм

Вид фильтра	Количество жизнеспособных (разрушенных) адипоцитов, %			Количество жизнеспособных (разрушенных) фибробластоподобных клеток, %		
	10 пассажей	20 пассажей	30 пассажей	10 пассажей	20 пассажей	30 пассажей
1,4 мм	68 (4)	66 (8)	62 (12)	28 (0)	26 (0)	24 (2)
1,2 мм	52 (20)	46 (24)	42 (26)	24 (4)	24 (6)	26 (6)
0,5 мм («наножир»)	16 (56)	12 (58)	4 (78)	16 (12)	16 (14)	6 (12)

Рис. 1. Жизнеспособные фибробластоподобные клетки (1) и неповрежденные адипоциты (2) вокруг них (фильтр с диаграмми ячейек 1,4 мм).

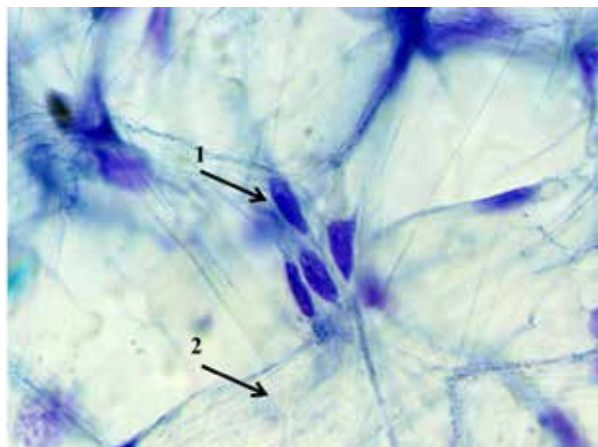
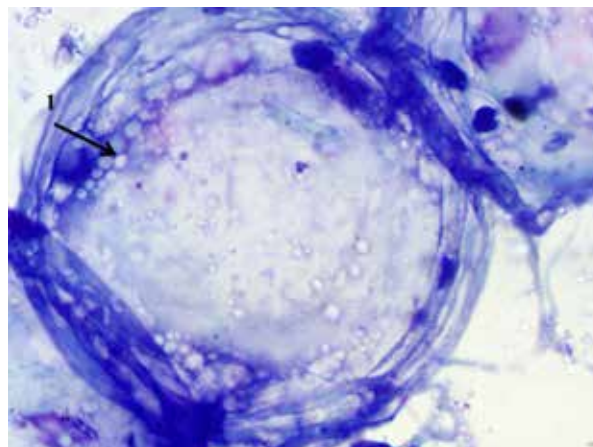


Рис. 2. Частично разрушенный адипоцит. Отмечается фрагментация цитоплазмы (1) адипоцита (фильтр с диаграмми ячейек 1,2 мм).



Фибробластоподобные клетки располагались преимущественно среди соединительнотканых элементов, волокон соединительной ткани, последние при увеличении числа пассажей постепенно теряли целостность. У части фибробластоподобных клеток была нарушена внутренняя целостность клеток. Наиболее поврежденными оказались отдельно лежащие адипоциты, меньшая степень повреждения определялась в клеточных конгломератах. Эритроциты в мазках при использовании 1,2 мм фильтра фильтр с диаметрами ячеек 1,2 мм единичны. Микроскопическая картина повреждения фибробластоподобных клеток в виде нарушения клеточной стенки и внутренней структуры представлена на рисунке 3.

При пассажах через эмульсифицирующий «нано-фильтр» процент неповрежденных клеток уменьшился до 16%, 12% и 4% адипоцитов и 16%, 16%, 6% фибробластоподобных клеток. Применение эмульсифицирующего («нано») фильтра привело к значительному разрушению адипоцитов до 56%, 58% и 78%, фибробластоподобных клеток — до 12%, 14% и 12% соответственно каждые 10 пассажей. Микроскопическая картина эмульгированного «нано-жира» в виде гомогенной масляной фракции и единичных клеток представлена на рисунках 4 и 5, при этом определяются неповрежденные фибробластоподобные клетки среди преимущественно разрушенных адипоцитов.

Морфологически разрушение ядер клеток сопровождалось образованием внутриядерных вакуолей с конденсацией хроматина. Определялись единичные остатки волокон соединительной ткани, большая часть мазка оказалась представлена гомогенным жиром, «маслом» («oil»), среди которого определялись единичные клеточные элементы. Фибробластоподобные

Рис. 4. Поврежденные фибробластоподобные клетки и отсутствие адипоцитов (эмульсифицированный «наножир»). Разрушение ядер клеток с образованием внутриядерных вакуолей и конденсация хроматина (1) в разрушающихся ядрах клеток.

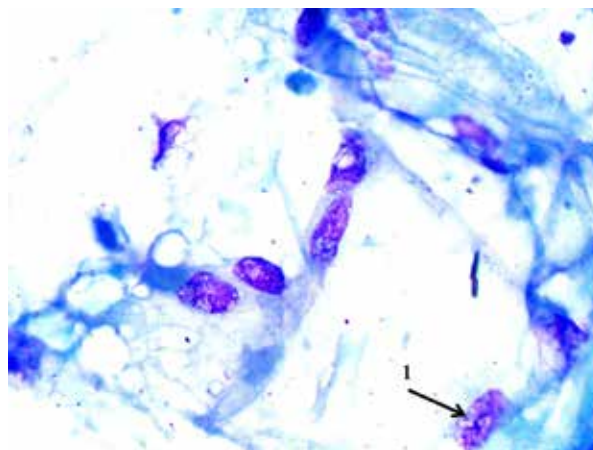
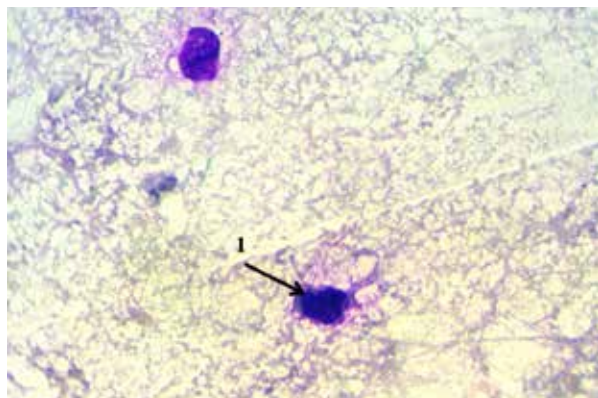


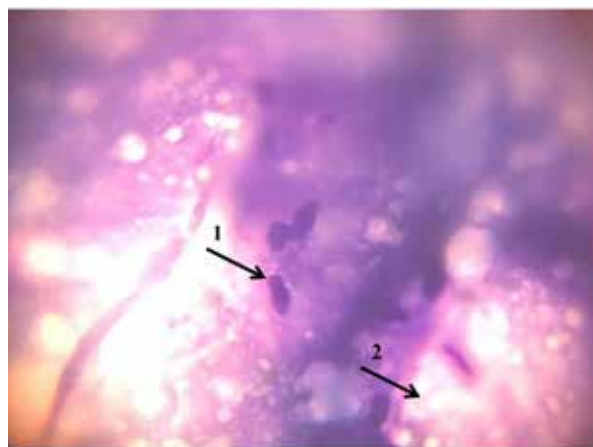
Рис. 3. Поврежденные фибробластоподобные клетки. У части фибробластоподобных клеток нарушена целостность клеточной структуры (1) (1,2 мм фильтр).

клетки в эмульсифицированном жире определялись в основном в конгломератах из адипоцитов, в «масле» они практически не встречались.

Сводный график распределения поврежденных и неповрежденных клеток при использовании фильтров с диаметром ячеек 1,4 мм и 1,2 мм и эмульгирующего «нано» фильтра и различном количестве пассажей через каждый из них представлен на рисунке 6.

Корреляционный анализ выявил, что число пассажей через фильтр с диаметром 1,2 мм значимо не влияет на жизнеспособность клеток липографта. При увеличении количества пассажей через фильтр 1,4 мм количество разрушенных адипоцитов значимо возрастало ($R=0,8$; $p=0,0001$), а число неповрежденных фибробластоподобных клеток снижалось ($R=-0,4$; $p=0,04$). При использовании эмульсифицирующего «нано-фильтра» с диаметром ячеек 0,5 мм количество неповрежденных фибробластоподобных клеток также снижалось ($R=0,5$; $p=0,006$).

Рис. 5. Неповрежденные фибробластоподобные клетки (1) среди разрушенных адипоцитов (2) — эмульсифицированный «наножир».



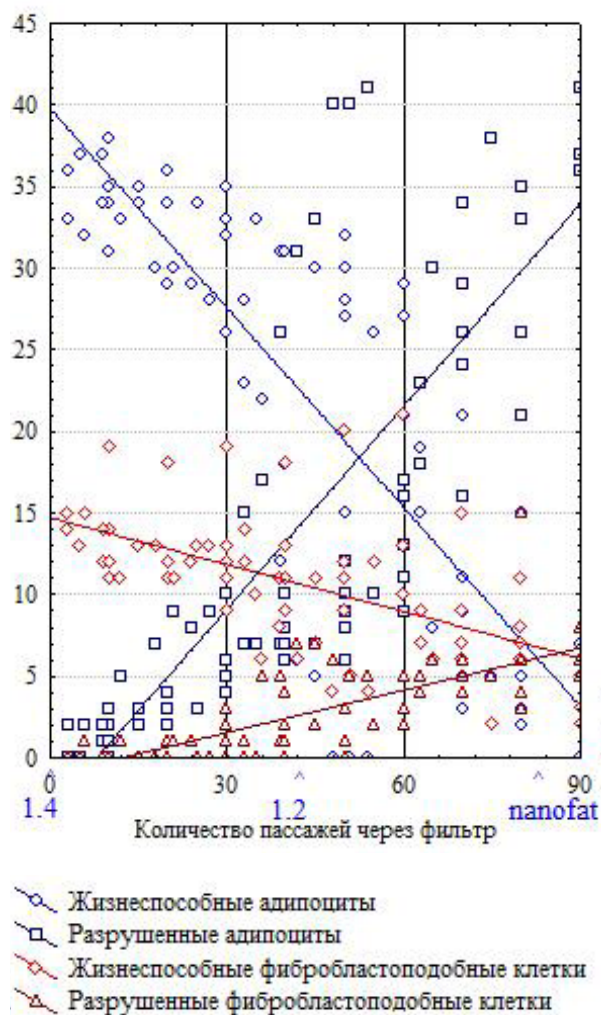


Рис. 6. Количество неповрежденных и поврежденных клеток в зависимости от количества пассажей через каждый фильтр.

Статистически значимого различия в клеточном составе липографта каждые 10 пассажей не было, оно определялось только при переходе от фильтра к фильтру ($p=0,02$). Максимальное повреждение нанес «нано-фильтр»: количество неповрежденных клеток, как адипоцитов, так и фибробластоподобных, уменьшилось уже после первого пассажа, однако большая их часть оставалась морфологически не поврежденными.

Обсуждение

Жизнеспособность клеток — один из важнейших факторов, влияющих на долгосрочное выживание и регенерацию трансплантированной жировой ткани [13]. Анализ жизнеспособности адипоцитов при использовании различных методов липоаспирации показал, что процент был выше при шприцевой и водоструйной методиках липоаспирации — 65%, при механической он был несколько ниже —

55% ($p=0,18$). Так как при этом отрицательное давление было сопоставимым, то есть при использовании одинакового отрицательного давления при аспирации жира менее травматичны водоструйная и шприцевая методики.

Диаметр канюли при шприцевой липоаспирации равнялся 2,4 мм, при механической и водоструйной — 4 мм. Таким образом, меньший диаметр канюли при применении шприцевой техники характеризовался выживаемостью клеток, сопоставимой (или чуть выше, учитывая более высокое значение медианы) с водоструйной методикой.

В качестве донорской области может быть использовано любое локальное отложение подкожного жира. По данным J.L. Crawford et al. [14], наиболее подходящими участками для липоаспирации являются живот и бедра. Результаты исследования соответствуют этому факту: наибольшее количество жизнеспособных адипоцитов было получено с внутренней и наружной поверхностей бедер (80%), поясницы (74%), живота (56%). Менее половины жизнеспособных клеток определялось в липографте их зон ягодич (50%), плеч (38%), коленей (35%). Однако следует отметить, что липоаспириат перед анализом не подвергался отмыванию и центрифугированию, а эти методы обработки повышают его жизнеспособность.

Корреляционный анализ подтвердил данные исследования R. Osinga [11] о том, что число пассажей через фильтр не снижает число жизнеспособных клеток только при использовании фильтра с внутренним диаметром 1,2 мм. При увеличении количества пассажей через фильтр с диаметром ячеек 1,4 мм и эмульсифицирующий «нано-фильтр» с диаметром ячеек 0,5 мм число разрушенных клеток возрастало ($R=0,4-0,8$). Таким образом, рекомендуемое количество пассажей через данные фильтры должно быть снижено.

Анализ методик фильтрации жира показал максимальное количество неповрежденных адипоцитов при использовании фильтра с диаметром ячеек 1,4 мм — 68-62%, применение фильтра с диаметром ячеек 1,2 мм снижало их количество до 52-42%, еще сильнее их повреждала эмульсификация, оставляя к 30-му пассажу через фильтр лишь 4%. Количество неповрежденных фибробластоподобных клеток значимо не снижалось при применении фильтров с диаметром ячеек 1,4 и 1,2 мм — 24-26%. Эмульсифицирующий фильтр снизил процент неповрежденных фибробластоподобных клеток после 20-го пассажа с 16 до 6%.

Полученные данные соответствуют литературным источникам: в «макрожире» и в

«микрожир» присутствует жировая ткань с преимущественно нормальной гистологической структурой и лишь единичные разрушенные адипоциты. После применения эмульсифицирующего «нано-фильтра» определяется минимальное количество жизнеспособных адипоцитов, однако сохраняются фибробластоподобные клетки [10]. «Макрожир» содержит жизнеспособные адипоциты и мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани, поэтому его использование показано в областях, которые требуют заполнения больших объемов, таких как ягодицы и грудь. «Микрожир» больше подходит для более деликатных областей, например, лицо и руки, так как может быть введен через шприц с меньшим диаметром канюли. Эмульсифицированный «наножир» не показан для заполнения больших объемов, так как жизнеспособные адипоциты в основном отсутствуют, он может быть применен с регенеративной целью, для омоложения кожи, коррекции рубцов и лечения небольших дефектов мягких тканей [15]. Также эмульсифицированный жир может усиливать неоваскуляризацию и улучшать выживаемость трансплантата [16]. Результаты исследования эмульсифицированного «наножира» соответствуют данным литературы в вопросе состава масляной фракции: в ней определялись лишь единичные фибробластоподобные клетки [17].

Заключение

Таким образом, для регенераторной цели предпочтительно применение эмульсифицированного «нано-жира», так как данный способ подготовки позволяет снизить число адипоцитов до 4-16% в зависимости от числа пассажей, устранить волокна соединительной ткани, сохраняя жизнеспособными до 16% фибробластоподобных клеток.

Для заполнения дефектов мягких тканей использование эмульсифицированного жира не показано, так как число разрушенных адипоцитов не соответствует цели их использования, для этой задачи необходимо использование методик, позволяющих получить максимальное число адипоцитов, то есть применение «макрожира» с числом жизнеспособных адипоцитов в необработанном жире до 76%, и использование клеточного фильтра с диаметром 1,4 мм, позволяющего сохранить 62-68% неповрежденных клеток. Для сочетания регенераторной и волюмизирующей целей целесообразно применение анаэробных клеточных фильтров с диаметром 1,2 мм, так как при этом сохраняется 42-52% неповрежденных адипоцитов и 24-26% фибро-

бластоподобных клеток.

Финансирование

Работа выполнялась в соответствии с планом научных исследований Пермского государственного медицинского университета имени академика Е.А. Вагнера.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что конфликт интересов отсутствует.

Этические аспекты.

Одобрение комитета по этике

Исследование одобрено этическим комитетом Пермского государственного медицинского университета имени академика Е.А. Вагнера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Coleman SR, Lam S, Cohen SR, Bohluli B, Nahai F. Fat Grafting: Challenges and Debates. *Atlas Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2018 Mar;26(1):81-84. doi: 10.1016/j.cxom.2017.10.006
2. Bellini E, Grieco MP, Raposio E. The science behind autologous fat grafting. *Ann Med Surg (Lond)*. 2017 Nov 10;24:65-73. doi: 10.1016/j.amsu.2017.11.001. eCollection 2017 Dec.
3. Shridharani SM, Broyles JM, Matarasso A. Liposuction devices: technology update. *Med Devices (Auckl)*. 2014 Jul 21;7:241-51. doi: 10.2147/MDER.S47322. eCollection 2014.
4. Sasaki GH. Water-assisted liposuction for body contouring and lipoharvesting: safety and efficacy in 41 consecutive patients. *Aesthet Surg J*. 2011 Jan;31(1):76-88. doi: 10.1177/1090820X10391465
5. Fontes T, Brandro I, Negro R, Martins MJ, Monteiro R. Autologous fat grafting: Harvesting techniques. *Ann Med Surg (Lond)*. 2018 Nov 13;36:212-18. doi: 10.1016/j.amsu.2018.11.005. eCollection 2018 Dec.
6. Leong DT, Hutmacher DW, Chew FT, Lim TC. Viability and adipogenic potential of human adipose tissue processed cell population obtained from pump-assisted and syringe-assisted liposuction. *J Dermatol Sci*. 2005 Mar;37(3):169-76. doi: 10.1016/j.jdermsci.2004.11.009
7. Kakagia D, Pallua N. Autologous fat grafting: in search of the optimal technique. *Surg Innov*. 2014 Jun;21(3):327-36. doi: 10.1177/1553350613518846
8. Ozsoy Z, Kul Z, Bilir A. The role of cannula diameter in improved adipocyte viability: a quantitative analysis. *Aesthet Surg J*. 2006 May-Jun;26(3):287-89. doi: 10.1016/j.asj.2006.04.003
9. Hamza A, Lohsiriwat V, Rietjens M. Lipofilling in breast cancer surgery. *Gland Surg*. 2013 Feb;2(1):7-14. doi: 10.3978/j.issn.2227-684X.2013.02.03
10. Tonnard P, Verpaele A, Peeters G, Hamdi M, Cornelissen M, Declercq H. Nanofat grafting: basic research and clinical applications. *Plast Reconstr Surg*. 2013 Oct;132(4):1017-26. doi: 10.1097/

PRS.0b013e31829fe1b0

11. Osinga R, Menzi NR, Tchang LA, Caviezel D, Kalbermatten DF, Martin I, Schaefer DJ, Scherberich A, Largo RD. Effects of intersyringe processing on adipose tissue and its cellular components: implications in autologous fat grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2015 Jun;135(6):1618-28. doi: 10.1097/PRS.0000000000001288
12. Denu RA, Nemcek S, Bloom DD, Goodrich AD, Kim J, Mosher DF, Hematti P. Fibroblasts and Mesenchymal Stromal/Stem Cells Are Phenotypically Indistinguishable. *Acta Haematol.* 2016;136(2):85-97. doi: 10.1159/000445096
13. Eto H, Kato H, Suga H, Aoi N, Doi K, Kuno S, Yoshimura K. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg.* 2012 May;129(5):1081-92. doi: 10.1097/PRS.0b013e31824a2b19
14. Crawford JL, Hubbard BA, Colbert SH, Puckett CL. Fine tuning lipoaspirate viability for fat grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2010 Oct;126(4):1342-48. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181ea44a9
15. Vasilyev V, Vasilyev S, Vazhenin A, Teryushkova Z, Vasilyev Y, Vasilyev I, Semyonova A, Dimov G, Lomakin E. Abstract: An Algorithm for Treatment of Radiation-Induced Soft Tissue Damage with Products Based on Autologous Adipose Tissue. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2018 Sep;6(9 Suppl):155-56. doi: 10.1097/01.GOX.0000547029.33601.d4
16. Yu Q, Cai Y, Huang H, Wang Z, Xu P, Wang X, Zhang L, Zhang W, Li W. Co-Transplantation of Nanofat Enhances Neovascularization and Fat Graft Survival in Nude Mice. *Aesthet Surg J.* 2018 May 15;38(6):667-75. doi: 10.1093/asj/sjx211
17. Pallua N, Grasys J, Kim BS. Enhancement of progenitor cells by two-step centrifugation of emulsified lipoaspirates. *Plast Reconstr Surg.* 2018 Jul;142(1):99-109. doi: 10.1097/PRS.0000000000004495

REFERENCES

1. Coleman SR, Lam S, Cohen SR, Bohluli B, Nahai F. Fat Grafting: Challenges and Debates. *Atlas Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2018 Mar;26(1):81-84. doi: 10.1016/j.cxom.2017.10.006
2. Bellini E, Grieco MP, Raposio E. The science behind autologous fat grafting. *Ann Med Surg (Lond).* 2017 Nov 10;24:65-73. doi: 10.1016/j.amsu.2017.11.001. eCollection 2017 Dec.
3. Shridharani SM, Broyles JM, Matarasso A. Liposuction devices: technology update. *Med Devices (Auckl).* 2014 Jul 21;7:241-51. doi: 10.2147/MDER.S47322. eCollection 2014.
4. Sasaki GH. Water-assisted liposuction for body contouring and lipoharvesting: safety and efficacy in 41 consecutive patients. *Aesthet Surg J.* 2011 Jan;31(1):76-88. doi: 10.1177/1090820X10391465
5. Fontes T, Brandro I, Negro R, Martins MJ, Monteiro R. Autologous fat grafting: Harvesting techniques. *Ann Med Surg (Lond).* 2018 Nov 13;36:212-18. doi: 10.1016/j.amsu.2018.11.005. eCollection 2018 Dec.

Адрес для корреспонденции

614000, Российская Федерация,
г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26,
Пермский государственный медицинский
университет им. акад. Е.А. Вагнера,

6. Leong DT, Huttmacher DW, Chew FT, Lim TC. Viability and adipogenic potential of human adipose tissue processed cell population obtained from pump-assisted and syringe-assisted liposuction. *J Dermatol Sci.* 2005 Mar;37(3):169-76. doi: 10.1016/j.jdermsci.2004.11.009
7. Kakagia D, Pallua N. Autologous fat grafting: in search of the optimal technique. *Surg Innov.* 2014 Jun;21(3):327-36. doi: 10.1177/1553350613518846
8. Ozsoy Z, Kul Z, Bilir A. The role of cannula diameter in improved adipocyte viability: a quantitative analysis. *Aesthet Surg J.* 2006 May-Jun;26(3):287-89. doi: 10.1016/j.asj.2006.04.003
9. Hamza A, Lohsiriwat V, Rietjens M. Lipofilling in breast cancer surgery. *Gland Surg.* 2013 Feb;2(1):7-14. doi: 10.3978/j.issn.2227-684X.2013.02.03
10. Tonnard P, Verpaele A, Peeters G, Hamdi M, Cornelissen M, Declercq H. Nanofat grafting: basic research and clinical applications. *Plast Reconstr Surg.* 2013 Oct;132(4):1017-26. doi: 10.1097/PRS.0b013e31829fe1b0
11. Osinga R, Menzi NR, Tchang LA, Caviezel D, Kalbermatten DF, Martin I, Schaefer DJ, Scherberich A, Largo RD. Effects of intersyringe processing on adipose tissue and its cellular components: implications in autologous fat grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2015 Jun;135(6):1618-28. doi: 10.1097/PRS.0000000000001288
12. Denu RA, Nemcek S, Bloom DD, Goodrich AD, Kim J, Mosher DF, Hematti P. Fibroblasts and Mesenchymal Stromal/Stem Cells Are Phenotypically Indistinguishable. *Acta Haematol.* 2016;136(2):85-97. doi: 10.1159/000445096
13. Eto H, Kato H, Suga H, Aoi N, Doi K, Kuno S, Yoshimura K. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg.* 2012 May;129(5):1081-92. doi: 10.1097/PRS.0b013e31824a2b19
14. Crawford JL, Hubbard BA, Colbert SH, Puckett CL. Fine tuning lipoaspirate viability for fat grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2010 Oct;126(4):1342-48. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181ea44a9
15. Vasilyev V, Vasilyev S, Vazhenin A, Teryushkova Z, Vasilyev Y, Vasilyev I, Semyonova A, Dimov G, Lomakin E. Abstract: An Algorithm for Treatment of Radiation-Induced Soft Tissue Damage with Products Based on Autologous Adipose Tissue. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2018 Sep;6(9 Suppl):155-56. doi: 10.1097/01.GOX.0000547029.33601.d4
16. Yu Q, Cai Y, Huang H, Wang Z, Xu P, Wang X, Zhang L, Zhang W, Li W. Co-Transplantation of Nanofat Enhances Neovascularization and Fat Graft Survival in Nude Mice. *Aesthet Surg J.* 2018 May 15;38(6):667-75. doi: 10.1093/asj/sjx211
17. Pallua N, Grasys J, Kim BS. Enhancement of progenitor cells by two-step centrifugation of emulsified lipoaspirates. *Plast Reconstr Surg.* 2018 Jul;142(1):99-109. doi: 10.1097/PRS

Address for correspondence

614000, Russian Federation,
Perm, Petropavlovskaya Str., 26,
Perm State Medical University Named After
Academician E.A. Vagner,

деканат лечебного факультета,
тел. моб.: +7 909 107-12-34,
e-mail: renelve@gmail.com,
Храмцова Наталья Игоревна

Сведения об авторах

Храмцова Наталья Игоревна, к.м.н., доцент кафедры госпитальной хирургии, Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, г. Пермь, Российская Федерация.

<http://orcid.org/0000-0001-6097-6855>

Плаксин Сергей Александрович, д.м.н., профессор кафедры хирургии с курсом сердечно-сосудистой хирургии и инвазивной кардиологии, Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, г. Пермь, Российская Федерация

<http://orcid.org/0000-0001-8108-1655>

Соцков Артем Юрьевич, студент, Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, г. Пермь, Российская Федерация.

<https://orcid.org/0000-0003-0225-2925>

Пономарев Данил Николаевич, студент, Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, г. Пермь, Российская Федерация.

<https://orcid.org/0000-0001-5324-7515>

Информация о статье

Поступила 28 апреля 2020 г.

Поступила 7 апреля 2020 г.

Доступна на сайте 1 сентября 2021 г.

the Dean's Office of the Medical Faculty
tel.mobile: +7 909 107-12-34,
e-mail: renelve@gmail.com,
Khramtsova Natalya I.

Information about the authors

Khramtsova Natalya I., PhD, Associate Professor of the Hospital Surgery Department, Perm State Medical University Named After Academician E.A. Vagner, Perm, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0001-6097-6855>

Plaksin Sergey A., MD, Professor of the Surgery Department with the Course of Cardiovascular Surgery and Invasive Cardiology, Perm State Medical University Named After Academician E.A. Vagner, Perm, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0001-8108-1655>

Sotskov Artem Yu., Student, Perm State Medical University Named After Academician E.A. Vagner, Perm, Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0003-0225-2925>

Ponomarev Danil N., Student, Perm State Medical University Named After Academician E.A. Vagner, Perm, Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0001-5324-7515>

Article history

Arrived: 28 April 2020

Accepted for publication: 7 April 2021

Available online: 1 September 2021